

**DAS ISOENZYMUSTER DER
LACTAT-DEHYDROGENASE IM NASENSEKRET
BEI ERKRANKUNGEN IM BEREICH DER NASE UND
IHRER NEBENHÖHLEN**

Inge HeiB

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549025_0054

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohren-Kranke
der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. H. Naumann

DAS ISOENZYMUSTER DER LACTAT-DEHYDROGENASE IM NASENSEKRET
BEI ERKRANKUNGEN IM BEREICH DER NASE UND IHRER NEBENHÖHLEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Inge Heiß

Peiting

1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Dozentin Dr. med. K. U. Schorn

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. H. H. Naumann

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 7. 12. 1978



DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

From the year 1870 to 1875, the following names are the
the first names of the children, the first names of the
children, and the names of the children.

From the year 1875 to 1880, the following names are the
the first names of the children, the first names of the
children, and the names of the children.

From the year 1880 to 1885, the following names are the
the first names of the children, the first names of the
children, and the names of the children.

Meiner Mutter

Frau Priv.-Doz. Dr. med. K. U. Schorn danke ich für die Überlassung des Themas, für die Betreuung der Arbeit und für anregende Diskussionen.

Herrn Prof. Dr. H. H. Naumann, als dem Direktor der Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Kranke der Universität München, danke ich für den Arbeitsplatz, den er mir in seiner Klinik zur Verfügung gestellt hat.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. K. Hochstraßer danke ich für die wohlwollende Unterstützung und Förderung dieser Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

B. THEORETISCHER TEIL

1. Vorbemerkung
2. Trennung der Isoenzyme
3. Sekretgewinnung

C. ERGEBNISSE

D. DISKUSSION

E. METHODIK

1. Gewinnung des Nasensekrets
2. Gewinnung des Serums
3. Bestimmung der Gesamt-LDH
4. Elektrophoretische Trennung der Isoenzyme
5. Nachweis der LDH durch Anfärben der Gele

F. ZUSAMMENFASSUNG

G. LITERATUR

A. EINLEITUNG

Das Nasensekret wurde jahrelang als biochemisch leer angesehen und ist deshalb für die Grundlagenforschung weitgehend uninteressant geblieben. Es wurde in der Literatur meist nur erwähnt, daß es zu 95 % aus Wasser besteht, weiterhin zu ca. 4,2 % aus organischen Bestandteilen und zu ca. 0,8 % aus anorganischen Ionen wie Na^+ , K^+ , Cl^- und Ca^{++} . Die wichtigste Komponente der organischen Bestandteile ist das spezifische Glucoprotein Mucin, bestehend aus einem Polysaccharid- und einem Proteinanteil. Das Mucin spielt im Rahmen der Regelung der Viskosität und Elastizität des Nasensekrets eine wichtige Rolle. Weitere organische Komponenten sind Serumproteine und einige niedermolekulare Substanzen wie die freien Aminosäuren (1, 10, 6, 11).

1929 wurde erstmalig ein Enzym im Nasensekret, nämlich das Lysozym, von Fleming entdeckt und untersucht (3). Lysozym ist eine Mucopolysaccharidase, die grampositive Bakterienwände auflösen kann. Sie übt einen hemmenden Effekt sowohl auf bestimmte pathogene, als auch auf apathogene Erreger aus. So findet man das Lysozym bei akuten Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen erniedrigt, bei Zustand nach Laryngektomie, wenn die Nase als Filter wegfällt, ist es erhöht (12).

In der Folgezeit entdeckte man vier weitere Enzyme im Nasensekret: Acetylcholinesterase, Hyaluronidase (2, 24), Peroxidasen und ein spezifisches proteolytisches Enzym, das sog. nasale fibrinolytische Enzym (16). Exakte Konzentrationsbestimmungen bei verschiedenen Erkrankungen im Bereich der Nase und ihrer Nebenhöhlen fehlen jedoch.

Vor drei Jahren wurde erstmals bei bestimmten Enzymen im Nasensekret quantitative und qualitative Untersuchungen durchgeführt und zu verschiedenen Erkrankungen in Beziehung gebracht. Es handelte sich dabei um Enzyme, die im Intermediärstoffwechsel vorkommen und die auf internistischem Gebiet wesentlich zur Organdiagnostik beitragen, wie die Lactat-Dehydrogenase (LDH), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Kreatin-Kinase (CK) (18).

Anhand von Parallelbestimmungen der Enzymaktivitäten im Serum und im Nasensekret des selben Patienten konnte bewiesen werden, daß die Enzyme nicht durch Transsudation vom Serum in das Nasensekret gelangen, sondern daß sie von der Nasenschleimhaut selbst gebildet werden. Bei Erkrankungen, die mit starken Erhöhungen von Enzymaktivitäten im Serum einhergehen, fand sich in keinem Fall eine simultane Aktivitätszunahme im Nasensekret.

Weiterhin wurden Untersuchungen der Enzymaktivitäten im menschlichen Nasensekret bei physiologischem und patho-

logischem Zustand der Schleimhaut durchgeführt. Beim Vergleich der, nach verschiedenen Erkrankungen im Nasen- und Nasennebenhöhlenbereich zusammengefaßten Gruppen von pathologischen Sekreten mit der Gruppe der physiologischen Sekrete, fanden sich zum Teil auffällige Unterschiede der Enzymaktivitäten (17). Es ist somit durch die Bestimmung der oben angeführten Intermediärstoffwechselenzyme möglich, bestimmte Erkrankungen im Bereich der Nase und ihrer Nebenhöhlen, wie z.B. Sinusitis maxillaris acuta, Virusrhinitis, Polyposis nasi, maligne Tumoren, Ozaena und Zustand nach Laryngektomie voneinander zu differenzieren.

Im Rahmen dieser Untersuchungen traten Schwierigkeiten bei der Bestimmung der Gesamtaktivitäten auf. Die normale Sekretionsaktivität der Nasenschleimhaut ist vielen Schwankungen unterworfen und wird vom Schlaf-Wach-Rhythmus, Blutdruck, psychischen sowie vielen anderen Faktoren beeinflusst. Deshalb ist es nicht möglich, die Enzymaktivität, wie im Serum üblich, in mU pro Volumeneinheit zu messen. Es ist erforderlich, einen geeigneten Bezugsfaktor im Nasensekret zu finden, der genügend konstante, von der Sekretionsaktivität weitgehend unabhängige Werte zeigt. Am besten erfüllt Albumin diese Voraussetzungen und es ist damit möglich, reproduzierbare Untersuchungen durchzuführen (15).

Um diese Schwierigkeiten der Normierung zu vermeiden, wurden Untersuchungen von Isoenzymen im Nasensekret erwogen, da es sich beim Nachweis von Isoenzymen um keine

quantitativen Untersuchungen der Gesamtaktivität handelt, sondern um die Bestimmung prozentualer Anteile.

In der Inneren Medizin ist bekannt, daß die Isoenzymbestimmung eine größere differentialdiagnostische Aussagekraft hat als die alleinige Bestimmung der Gesamtaktivität, die oft unspezifisch verändert ist.

Die Untersuchungen von Schorn und Hochstraßer (19) haben eindeutig nachgewiesen, daß das LDH-Isoenzymmuster des Nasensekrets charakteristische Unterschiede zum Isoenzymmuster des Serums zeigt. Während die Hauptaktivität der LDH* im Serum auf Isoenzyme entfällt, die entweder ganz ($\text{LDH1}=\text{H}_4$) oder überwiegend ($\text{LDH2}=\text{H}_3\text{M}$) aus H-Typ-Monomeren bestehen, entfällt die Hauptaktivität im Nasensekret auf Isoenzyme mit einem eher größeren Anteil an M-Typ-Monomeren ($\text{LDH3}=\text{H}_2\text{M}_2$, $\text{LDH4}=\text{HM}_3$). Die Isoenzyme im Nasensekret sind jedoch keine reinen M-Typ-Monomeren, da die LDH5, also das Monomere M_4 , wenn überhaupt, nur in ganz geringem prozentualen Anteil vorkommt. Durch das Fehlen bzw. nur minimale Auftreten der Isoenzyme LDH1 und LDH5 weicht das LDH-Isoenzymmuster im Nasensekret eindeutig von jedem anderen LDH-Isoenzymmuster im menschlichen Organismus ab. Dies bedeutet, daß die LDH-Isoenzyme des Nasensekrets offensichtlich durch Schleimhautzellen gebildet werden, die offenbar sowohl H-Typ-Monomere als auch M-Typ-Monomere synthetisieren können.

*nähere Erklärung zu den Isoenzymen, siehe Vorbemerkung.

Das unterschiedliche LDH-Isoenzymmuster von Serum und Nasensekret ist somit nicht nur ein weiterer Beweis dafür, daß LDH nicht durch Transsudation homologer Serumenzyme in das Sekret gelangt, sondern daß die LDH-Aktivität des Sekrets durch die aktive Leistung der Nasenschleimhaut zustande kommt, die sogar fähig ist, H-Typ- und M-Typ-Monomere gleichzeitig zu synthetisieren.

Da bis jetzt jedoch nur das Isoenzymmuster im Nasensekret von gesunden Patienten untersucht wurde, die Gesamt-LDH-Aktivität aber bei bestimmten Erkrankungen im Bereich der Nase und ihrer Nebenhöhlen stark erhöht ist, glaubten wir, daß auch das Isoenzymmuster im pathologischen Sekret für die Diagnostik von Interesse sein könnte.

Im Rahmen dieser Arbeit stellten wir uns folgende Aufgaben:

1. Bestimmung des Isoenzymusters der LDH im Nasensekret bei Patienten mit Erkrankungen im Nasen- und Nasennebenhöhlenbereich.

2. Vergleich des Isoenzymusters im Nasensekret mit dem Isoenzymmuster im Serum des jeweiligen Patienten.

3. Vergleich des LDH-Isoenzymusters im Nasensekret von Patienten mit einer Erkrankung im Nasen- und Nasennebenhöhlenbereich mit dem von Gesunden.

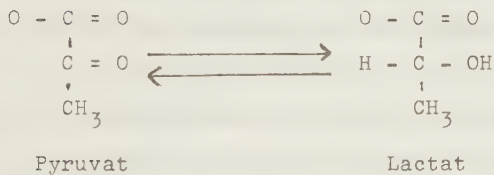
4. Aufstellen differentialdiagnostischer Richtlinien bei

Erkrankungen im Nasen- und Nasennebenhöhlenbereich mit
Hilfe des LDH-Isoenzymmusters im Nasensekret.

B. THEORETISCHER TEIL

1. Vorbemerkung

Das Intermediärstoffwechselenzym Lactat-Dehydrogenase (LDH; NAD Oxydoreduktase 1.1.1.27) wurde bereits 1957 mit seinen Isoenzymen im Serum entdeckt und ist deshalb am besten untersucht (20, 21, 25). Es katalysiert die Reaktion



Aufgabe des Enzyms ist die Einstellung eines den physiologischen Bedingungen entsprechenden Pyruvat-Lactat-Gleichgewichtes. Dabei wird unter anaeroben Verhältnissen mehr Lactat gebildet, unter aeroben Bedingungen mehr Pyruvat zur Veratmung bereitgestellt.

Der Begriff Isoenzyme wird für elektrophoretisch voneinander trennbare Fraktionen eines Enzyms verwendet, die in ihren katalytischen Eigenschaften identisch sind, sich jedoch in ihrer Proteinstruktur und somit in gewissen physikalisch-chemischen Eigenschaften unterscheiden. Durch verschiedene elektrophoretische Verfahren mit spezifischen Anfärbemethoden gelingt es, in Gewebsextrakten und Körperflüssig-

keiten des Menschen fünf verschiedene LDH-Isoenzyme nachzuweisen (7, 13, 14, 26, 28, 30). Aufgebaut werden die LDH-Isoenzyme durch Kombination zweier genetisch differenter Untereinheiten, die als H-(heart-type) und M-(muscle-type) Untereinheit bezeichnet werden. Die Lactat-Dehydrogenase ist ein tetrameres Enzym und wird aus vier solchen Untereinheiten aufgebaut. Damit sind fünf Kombinationsmöglichkeiten gegeben. LDH1 enthält vier H-Typ-Monomere (H_4), während LDH5 nur aus M-Typ-Monomeren aufgebaut ist (M_4). Die übrigen drei LDH-Isoenzyme setzen sich aus beiden Untereinheiten zusammen. LDH2 entspricht H_3M , LDH3 entspricht H_2M_2 und LDH4 entspricht HM_3 . Das Verteilungsmuster der Isoenzyme in den einzelnen Organen steht in Beziehung zu deren Sauerstoffversorgung. Gewebe mit vorwiegend anaerober Energiegewinnung (z.B. Muskel und Leber) enthalten vor allem LDH4 und LDH5, das heißt, es werden hauptsächlich M-Untereinheiten synthetisiert. Gut mit Sauerstoff versorgte Gewebe dagegen (z.B. Herz) enthalten im wesentlichen LDH1 und LDH2, das heißt, es werden hauptsächlich H-Untereinheiten synthetisiert (8, 9, 22, 23, 27, 29).

2. Trennung der Isoenzyme

LDH₁ wandert in der Elektrophorese am schnellsten anodisch, LDH₅ entspricht der in der Elektrophorese kaum anodisch wandernden Fraktion. LDH₂, 3 und 4 liegen in ihrem kinetischen Verhalten zwischen den beiden Extremen. Prinzipiell sind zur Auftrennung von Isoenzymen mehrere Wege möglich.

Die meisten Methoden wie

- Hochspannungselektrophorese
- Stärke- oder Agarelektrophorese
- Diskelektrophorese
- Elektrophorese auf Zellulose-Acetat-Folie und
- Trennung an Zellulose- oder Dextran-Anionen-Austauschern

wurden für Serum und Gewebsextrakte entwickelt. Für die folgenden Untersuchungen des Nasensekrets wurde die Diskelektrophorese gewählt. Die Vorteile dieser Methode liegen vor allem in der hohen Trennschärfe und der Erfassung auch sehr geringer Isoenzymaktivitäten, die durch eine Kombination von Konzentrierungs- und Molekülsiebeffekt in einem diskontinuierlichen Polyamid-Gel erreicht wird. Zur Dokumentation wurden die angefärbten Banden der Isoenzyme fotografiert oder mit einem Mikrodensitometer ausgewertet.

3. Sekretgewinnung

Da es beim Nachweis der Isoenzyme nur darauf ankommt, den prozentualen Anteil der einzelnen Isoenzyme an der Gesamt-LDH-Kapazität zu bestimmen, kann jede beliebige Abnahmetechnik zur Gewinnung des Nasensekrets angewendet werden. Es ist nur erforderlich, eine genügende Menge Sekret zu erhalten.

Im Allgemeinen werden drei Methoden zur Sekretgewinnung verwendet:

- a) Austreiben des Sekrets in eine Petrischale durch forciertes Schneuzen.
- b) Sekretgewinnung durch Spülung der Nasenschleimhaut oder der Sinus.
- c) Zum quantitativen Nachweis von Isoenzymen im Nasensekret hat sich am besten eine Abnahmetechnik geeignet, nämlich das Einlegen von hydrophilen Tamppons in die Nasengänge, wobei diese Kontakt mit der Schleimhaut haben und vom Sekret durchtränkt werden können.

C. ERGEBNISSE

Zur Prüfung der Frage, ob sich das für die gesunde Nasenschleimhaut spezifische Isoenzymmuster des Nasensekrets unter pathologischen Bedingungen verändert und somit zur Differentialdiagnose herangezogen werden kann, wurden die Aktivitäten der Isoenzyme im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen untersucht. Die Einteilung der 58 untersuchten Patienten erfolgte nach folgenden Krankheitsbildern:

- Sinusitis maxillaris acuta
- Virus Rhinitis
- Zustand nach Laryngektomie
- Polyposis nasi
- maligne Tumoren der Nase und ihrer Nebenhöhlen
- Ozaena

Von jedem Patienten wurden im gleichen Elektrophorese-gang das LDH-Isoenzymmuster im Serum, im Nasensekret und in einer Mischung aus Serum und Nasensekret untersucht. Die Elektrophorese der Serum-LDH ergab mit großer Übereinstimmung bei allen Patienten dasselbe Muster. LDH1 stellte sich in jeder Probe dar, LDH2 zeigte fast immer die höchste Aktivität und LDH3 zeigte, wenn sie überhaupt meßbar war, immer die geringste Aktivität. LDH4 und LDH5 stellten sich nicht dar. Aufgrund dieses konstanten Serum-

Enzymmusters waren wir in der Lage, durch den Vergleich mit dem LDH-Isoenzymmuster des Nasensekrets die einzelnen Banden in der Nasensekretelektrophorese eindeutig zu definieren. Die Elektrophorese des Gemisches gab einen weiteren Anhalt zur sicheren Definierung der Banden.

Die Auswertung im Mikrodensitometer erlaubte eine zahlenmäßige Erfassung der Einzelaktivitäten der LDH-Isoenzyme. Wir setzten die Gesamtaktivität gleich 100 % und konnten durch die vom Gerät ausgeschriebenen Aktivitätsausschläge unter jedem Peak die relative Aktivität der einzelnen Isoenzymbanden angeben.

Aus den Untersuchungen des Isoenzymmusters der Lactat-Dehydrogenase im Nasensekret bei 52 Patienten ohne Erkrankung im Bereich der Nase und ihrer Nebenhöhlen, die von Schorn und Hochstraßer durchgeführt wurden (19), ergaben sich folgende Mittelwerte für die einzelnen Isoenzyme (Tab. I):

Tabelle I

LDH-Isoenzym-Verteilung im Nasensekret von Patienten ohne Erkrankungen im Nasen- und Nasennebenhöhlenbereich

Aktivität in rel. %

LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5
2,3	15,5	37,9	42,8	0,5

Das erste Patientenkollektiv bestand aus 19 Probanden mit einer Sinusitis maxillaris acuta. Nach Auftrennung der Lactat-Dehydrogenase mittels Diskelektrophorese und densitometrischer Auswertung konnte die relative Aktivität der einzelnen Enzyme bestimmt werden (Tab. II, Abb. 1, Abb. 2 a-c).

Die Hauptaktivität entfällt auf die Isoenzyme LDH3 und LDH4, also Isoenzyme, die mehr aus M-Typ-Monomeren bestehen. Die LDH2 ist ebenfalls in allen Sekreten durch ihre charakteristische Bande nachweisbar, allerdings mit geringerer Aktivität. Die LDH1, das Isoenzym mit der größten Beweglichkeit, konnte bei 72 % der Patienten mit Sinusitis überhaupt nicht nachgewiesen werden. In den wenigen Fällen, wo eine LDH1-Bande auftrat, war die Aktivität dieses Isoenzym sehr gering. Die LDH5 konnte nur bei einem Patienten mit Sinusitis maxillaris nachgewiesen werden.

Tabelle II

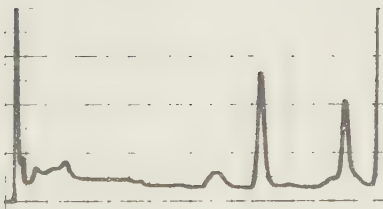
LDH-Isoenzym-Verteilung im Nasensekret von Patienten mit
Sinusitis maxillaris acuta

Aktivität in rel. %

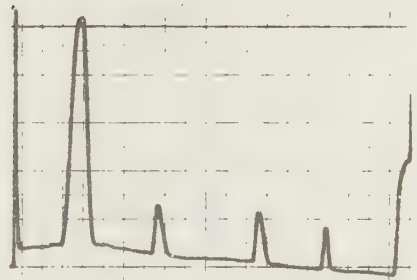
lfd. Nr.	I	II	III	IV	V	H(rel.%)	H/M
1	-	13,9	36,9	49,2	-	42,3	0,7
2	-	12,4	36,1	51,5	-	40,2	0,67
3	-	10,0	40,5	49,5	-	40,1	0,67
4	-	6,5	41,9	51,9	-	36,4	0,59
5	-	17,3	40,9	41,8	-	46,4	0,87
6	-	5,6	36,4	58,0	-	36,9	0,58
7	-	9,6	46,2	44,2	-	41,4	0,71
8	-	13,1	54,1	32,8	-	45,1	0,82
9	-	14,4	32,6	53,0	-	40,3	0,67
10	-	30,8	46,2	23,0	-	51,8	1,10
11	-	25,0	25,0	50,0	-	43,8	0,94
12	-	17,6	35,3	47,1	-	42,6	0,74
13	5,5	20,5	26,7	47,3	-	46,0	0,85
14	7,5	24,1	31,4	37,0	-	50,5	1,0
15	4,3	19,1	43,0	33,6	-	48,5	0,94
16	8,2	16,4	26,2	49,2	-	45,9	0,84
17	4,8	9,5	9,5	76,2	-	35,7	0,56
18	-	12,7	36,7	44,2	6,4	39,0	0,64



Abb. 1: Diskelektrophoretische Trennung der LDH-Isoenzyme eines Patienten mit Sinusitis maxillaris acuta. Links im Serum, Mitte im Nasensekret, rechts in einer Mischung aus Serum und Nasensekret.

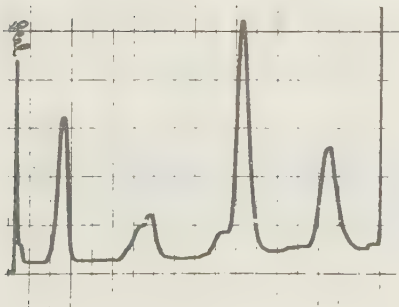


a



b

Abb. 2: Densitometrische Darstellung der LDH-Isoenzyme im Serum (a), im Nasensekret (b) und in einer Mischung aus Serum und Nasensekret (c) bei Sin. max. acuta.



c

Vergleicht man das Isoenzymmuster der Lactat-Dehydrogenase im Nasensekret bei akuter Sinusitis maxillaris mit den Isoenzymen im physiologischen Nasensekret, so finden sich keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3).

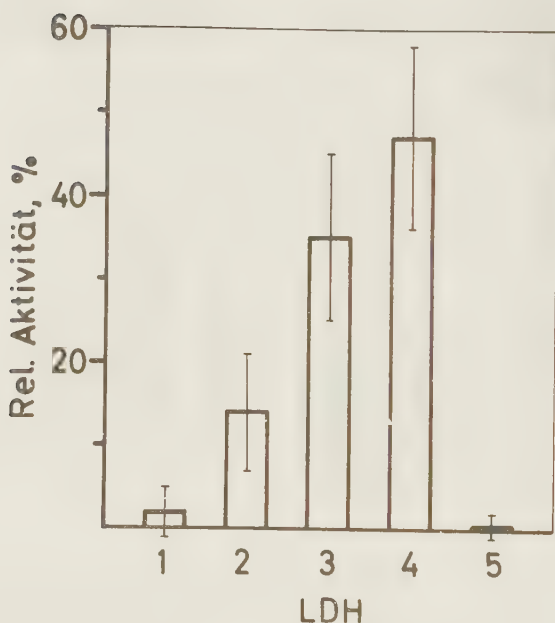


Abb. 3: Mittelwerte mit Standardabweichungen der LDH-Isoenzyme (LDH1 - LDH5) im Nasensekret von 18 Patienten mit Sinusitis maxillaris acuta. Die Aktivitäten in rel. % wurden aus der densitometrischen Registrierung ermittelt.

Das nächste Kollektiv setzt sich aus Patienten mit akuter Virus-Rhinitis und allergischer Rhinitis zusammen. Da die zunächst getrennt untersuchten Rhinitiden dasselbe Enzymmuster aufwiesen, wurden sie in ein Kollektiv zusammengefaßt. Das Isoenzymmuster des Nasensekrets zeichnete sich bei der Virus-Rhinitis und der allergischen Rhinitis ebenfalls wie bei der akuten Sinusitis darin aus, daß die Hauptaktivität auf die Isoenzyme LDH₃ und LDH₄ entfiel (Tab. III, Abb. 4, Abb. 5 a-c).

Die LDH₂ zeigt in allen Sekreten deutliche Banden, jedoch von geringerer Breite. Die LDH₁ konnte nur in 21,4 % der Fälle überhaupt nachgewiesen werden und auch die LDH₅ zeigte nur bei drei Patienten mit Rhinitis eine Aktivität, die sehr gering war.

Tabelle III

LDH-Isoenzym-Verteilung im Nasensekret von Patienten mit
Virus-Rhinitis

Aktivität in rel. %

lfd. Nr.	I	II	III	IV	V	H(rel.%)	H/M
1	-	10,0	40,0	50,0	-	40,0	0,67
2	-	11,2	33,8	55,0	-	39,0	0,64
3	-	19,2	55,3	25,5	-	48,5	0,94
4	-	27,0	61,9	11,1	-	54,0	1,2
5	-	12,9	45,2	41,9	-	48,8	0,75
6	-	11,6	38,4	50,0	-	40,4	0,68
7	-	14,3	37,2	48,5	-	41,4	0,7
8	-	5,5	38,5	56,0	-	37,4	0,6
9	4,8	18,5	24,2	52,5	-	51,0	0,78
10	6,2	25,5	34,5	33,8	-	51,0	1,0
11	2,2	22,2	35,5	40,1	-	46,6	0,87
12	-	19,5	32,5	36,2	11,0	40,0	0,67
13	-	18,7	35,5	39,8	6,0	41,7	0,72
14	-	42,4	26,9	26,9	3,8	52,0	1,1



Abb. 4: Diskelektrophoretische Trennung der LDH-Isoenzyme eines Patienten mit Virus-Rhinitis. Links im Serum, Mitte im Nasensekret, rechts in einer Mischung aus Serum und Nasensekret.

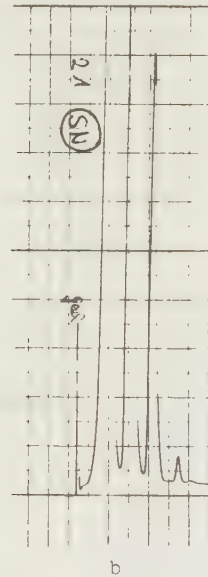
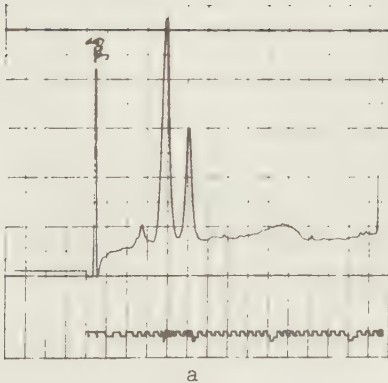


Abb. 5: Densitometrische Darstellung der LDH-Isoenzyme im Serum (a) und in einer Mischung aus Serum und Nasensekret (b) bei Virus-Rhinitis.

Wie aus der Mittelwertberechnung zu entnehmen ist (Abb. 6), weist das LDH-Isoenzymmuster im Nasensekret bei Patienten mit Virus-Rhinitis und allergischer Rhinitis keine signifikanten Veränderungen zu Isoenzymmustern physiologischer Sekrete oder Sekreten von Patienten mit Sinusitis auf.

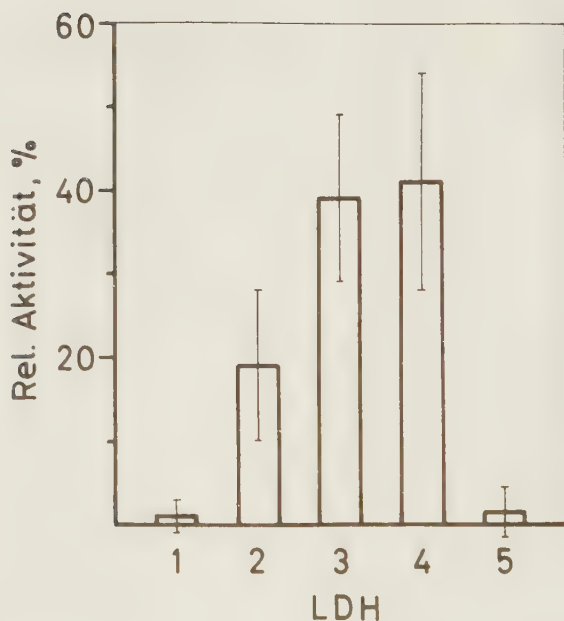


Abb. 6 : Mittelwerte mit Standardabweichung der LDH-Isoenzyme (LDH1 - LDH5) im Nasensekret von 14 Patienten mit Virus-Rhinitis und allergischer Rhinitis. Die Aktivität in rel. % wurde aus der densitometrischen Registrierung ermittelt.

In der nächsten Gruppe wurden Nasensekrete von elf Patienten bei Zustand nach Laryngektomie untersucht, also Patienten, bei denen die Nase ihre Aufgabe als Atmungs- und Riechorgan verloren hat. Es wurde darauf geachtet, daß nur Patienten in diesem Kollektiv berücksichtigt wurden, die mindestens ein halbes Jahr tracheotomiert waren, meistens jedoch länger, während die Diagnose, die zur Tracheotomie geführt hat, vernachlässigt wurde. Bei den meisten Patienten handelte es sich jedoch um einen Zustand nach Laryngektomie wegen Larynxkarzinom. Im Gegensatz zu den anderen Kollektiven konnte bei den Patienten mit Tracheostoma die Hauptaktivität nicht eindeutig auf die Isoenzyme LDH3 und LDH4 verteilt werden, sondern ebenfalls auf das Isoenzym LDH2. In 82 % der Fälle kam auch die LDH1 zur Darstellung mit zum Teil höheren Aktivitäten als die LDH2 (Tab. IV, Abb. 7, Abb. 8 a-c).

Tabelle IVLDH-Isoenzym-Verteilung im Nasensekret von Patienten
bei Zustand nach Laryngektomie

lfd. Nr.	<u>Aktivität in rel. %</u>						H/M
	I	II	III	IV	V	H(rel.%)	
1	-	35,1	40,5	24,4	-	52,7	1,1
2	-	11,8	19,4	58,8	-	38,2	0,62
3	4,7	15,1	38,7	41,5	-	45,8	0,85
4	5,9	13,6	38,1	42,3	-	45,8	0,85
5	8,7	19,5	45,7	26,1	-	52,7	1,1
6	15,8	12,3	36,2	35,7	-	52,0	1,1
7	12,0	16,0	24,0	48,0	-	48,0	0,9
8	5,3	15,8	37,6	41,3	-	46,3	0,86
9	15,6	29,4	29,5	25,5	-	58,8	1,4
10	16,7	37,5	20,8	25,0	-	61,2	1,6
11	22,7	36,4	22,7	18,2	-	65,9	1,9



Abb. 7: Diskelektrophoretische Trennung der LDH-Isoenzyme eines Patienten mit Tracheostoma. Links im Serum, Mitte im Nasensekret, rechts in einer Mischung aus Serum und Nasensekret.

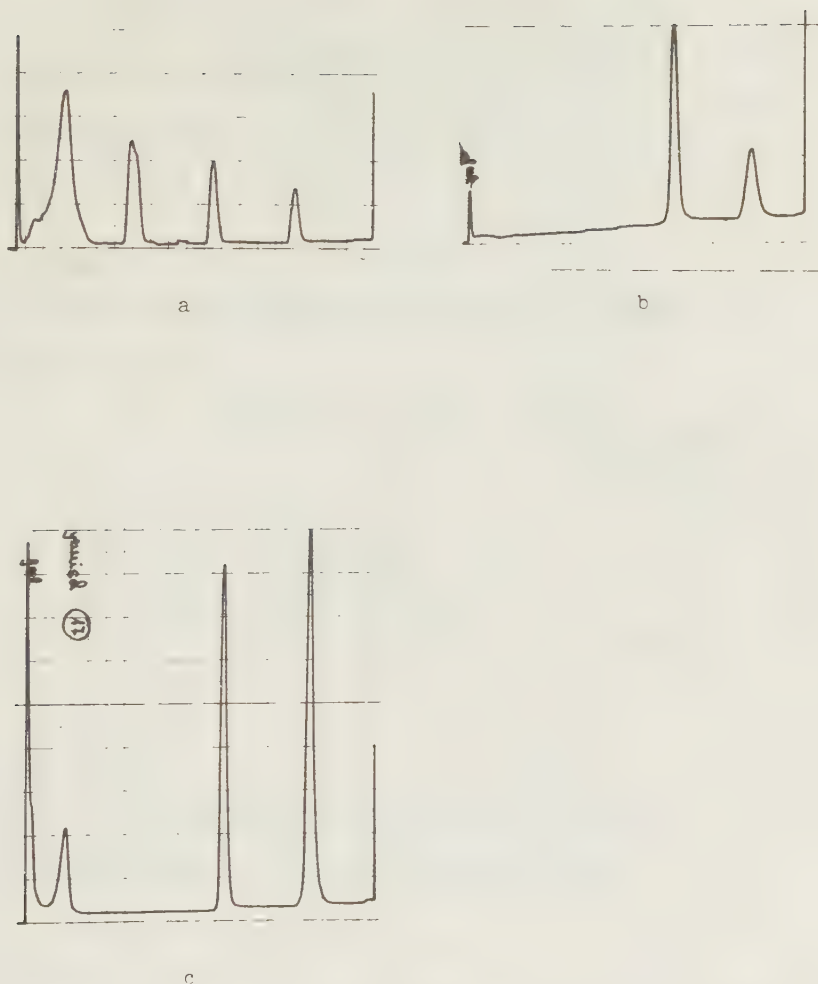


Abb. 8 a-c: Densitometrische Darstellung der LDF-Isoenzyme im Serum (a), im Nasensekret (b) und in einer Mischung aus Serum und Nasensekret (c) eines Patienten mit Tracheostoma.

Aus der Mittelwertsberechnung der einzelnen Isoenzyme im Nasensekret von Tracheotomierten geht hervor, daß die Nasenschleimhaut dieser Patienten dazu neigt, mehr H-Typ-Monomere zu synthetisieren als die Schleimhaut von Patienten, die die Nase normal als Belüftungs- und Riechorgan benutzen können (Abb. 9).

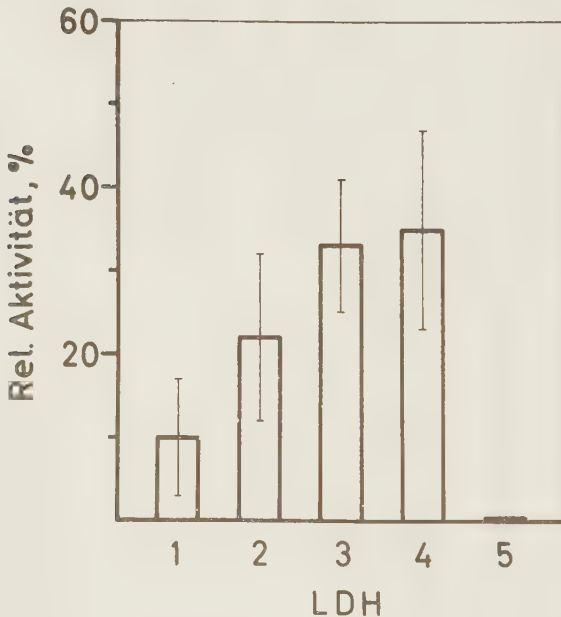


Abb. 9: Mittelwerte mit Standardabweichung der LDH-Isoenzyme (LDH1 - LDH5) im Nasensekret von 11 Patienten mit Tracheostoma. Die Aktivitäten in rel. % wurden aus der densitometrischen Registrierung ermittelt.

Die LDH-Isoenzymmuster im Nasensekret von Patientenkollektiven mit Polyposis nasi und malignen Tumoren weichen nicht vom Isoenzymmuster des normalen Nasensekrets ab. Die Hauptaktivität entfällt wiederum auf die Isoenzyme LDH3 und LDH4, während LDH1 und LDH5 nur selten nachweisbar sind (Tab. V, VI; Abb. 10).

Tabelle V

LDH-Isoenzym-Verteilung im Nasensekret von Patienten mit Polyposis nasi

lfd. Nr.	<u>Aktivität in rel. %</u>					H(rel.%)	H/M
	I	II	III	IV	V		
1	-	13,1	54,1	32,8	-	35,0	0,53
2	-	6,5	41,6	51,9	-	33,7	0,55
3	-	14,4	33,6	51,9	-	40,6	0,68
4	5,5	20,5	26,7	47,3	-	46,0	0,85
5	8,3	14,5	23,7	53,5	-	44,4	0,8

Tabelle VI

LDH-Isoenzym-Verteilung im Nasensekret von Patienten mit malignen Tumoren der Nase und Nasennebenhöhlen

lfd. Nr.	<u>Aktivität in rel. %</u>					H(rel.%)	H/M
	I	II	III	IV	V		
1	-	8,8	38,6	52,6	-	39,0	0,64
2	-	16,1	44,6	39,3	-	44,2	0,79
3	-	8,3	29,2	62,5	-	36,4	0,55
4	-	35,3	27,2	22,8	14,7	45,8	0,84

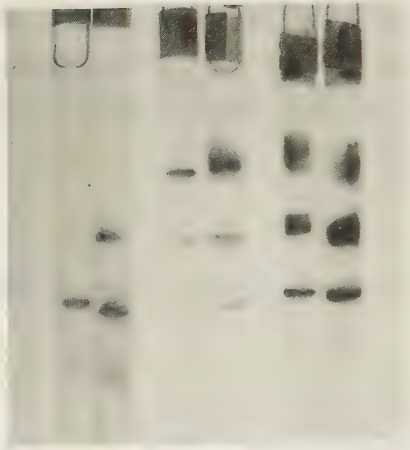


Abb. 10: Diskelektrophoretische Trennung des Untersuchungsmaterials von zwei Patienten, einem mit Polyposis nasi, dem anderen mit malignem Nasentumor. Links jeweils im Serum, Mitte im Nasensekret, rechts in einer Mischung aus Serum und Nasensekret.

Das Isoenzymmuster im Nasensekret bei der Polyposis nasi und den malignen Tumoren entspricht dem im normalen Nasensekret und dem bei anderen, entzündlichen Erkrankungen der Nasenschleimhaut (Abb. 11 und 12).

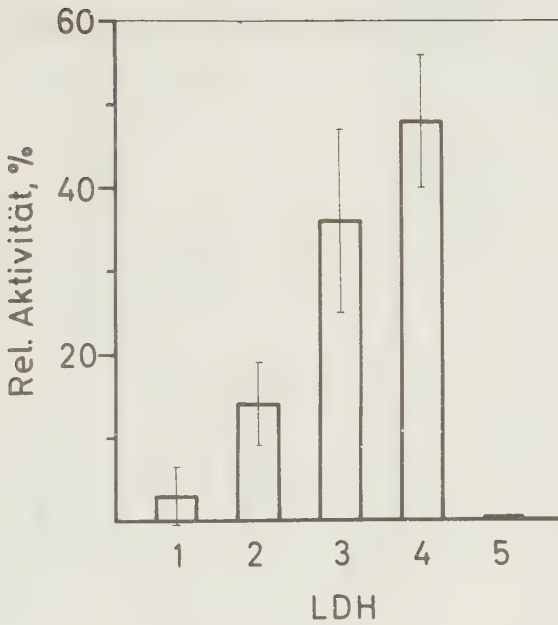


Abb. 11: Mittelwerte mit Standardabweichung der LDH-Isoenzyme (LDH1 - LDH5) im Nasensekret von 5 Patienten mit Polyposis nasi. Die Aktivitäten in rel. % wurden aus der densitometrischen Registrierung ermittelt.

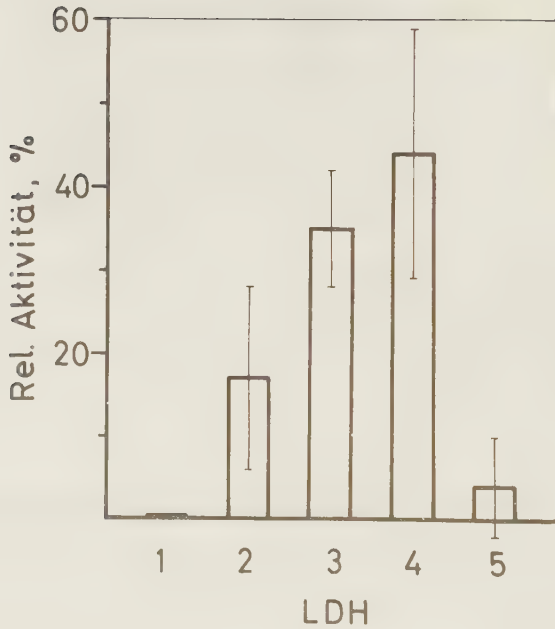


Abb. 12 : Mittelwerte mit Standardabweichung der LDH-Isoenzyme (LDH1 - LDH5) im Nasensekret von 4 Patienten mit malignen Nasentumoren. Die Aktivitäten in rel. % wurden aus der densitometrischen Registrierung ermittelt.

Ein verändertes Isoenzymmuster konnte im Nasensekret nur bei Patienten mit Ozaena nachgewiesen werden, wobei unter den Begriff Ozaena nicht nur die Rhinitis atrophicans cum foetore, sondern auch sine foetore eingeordnet wurde. Bei allen Patienten war das Isoenzym LDH5 nachweisbar. Die Hauptaktivität entfällt auf das Isoenzym LDH4. LDH1 und LDH2 zeigten, soweit überhaupt vorhanden, Banden mit sehr geringer Aktivität (Tab. VII, Abb. 13 und Abb. 14 a, b).

Tabelle VII

LDH-Isoenzym-Verteilung im Nasensekret von Patienten mit Ozaena und Präozaena

Ihd. Nr.	Aktivität in rel. %						H/M
	I	II	III	IV	V	H(rel.%)	
1	-	-	15,9	44,8	39,3	19,1	0,24
2	-	8,7	30,4	37,7	23,2	31,1	0,45
3	5,5	11,0	22,0	33,0	28,5	33,0	0,49
4	7,1	7,1	21,3	35,5	29,9	31,9	0,47
5	5,0	12,0	17,0	36,0	20,0	31,5	0,46



Abb. 13: Diskelektrophoretische Trennung der LDH-Isoenzyme eines Patienten mit Ozaena. Links im Serum, Mitte im Nasensekret, rechts in einer Mischung aus Serum und Nasensekret.

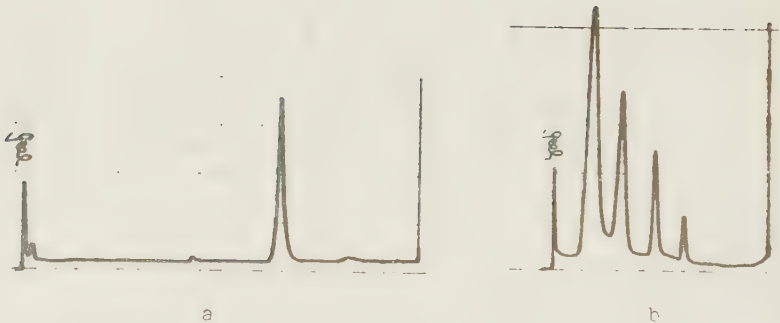


Abb. 14: Densitometrische Darstellung der LDH- Isoenzyme im Serum (a) und im Nasensekret (b) bei Ozaena.

Aus Abb. 15 geht eindeutig hervor, daß im Nasensekret von Patienten mit Ozaena vorwiegend die kathodischen Fraktionen zur Darstellung kommen. Der relative H-Anteil beträgt nur 29,3 %, d.h. die Nasenschleimhaut synthetisiert bei Patienten mit Ozaena vorwiegend M-Typ-Monomere und nicht wie im gesunden Zustand, H-Typ- und M-Typ-Monomere.

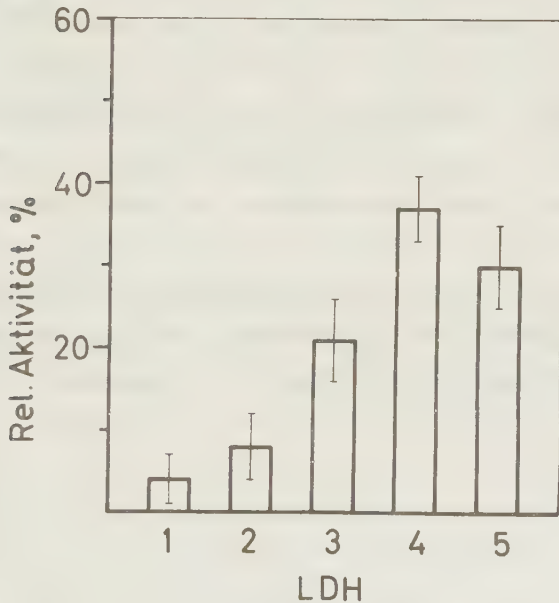


Abb. 15: Mittelwerte mit Standardabweichung der LDH-Isoenzyme (LDH1 - LDH5) im Nasensekret von 5 Patienten mit Ozaena. Die Aktivitäten wurden in rel. % aus der densitometrischen Registrierung ermittelt.

D. DISKUSSION

Die Enzymsynthese wird im Allgemeinen durch die jeweilige Stoffwechsel- und Bedarfssituation gesteuert. Wir gingen deshalb bei unseren Untersuchungen von der Vorstellung aus, daß es möglich ist, durch geeignete Isoenzymanalysen einen Einblick in den Funktionszustand der Nasenschleimhaut zu gewinnen. Die deutliche Konstanz der LDH-Isoenzym-Aktivitäten im Nasensekret unter physiologischen Bedingungen (19) warf weiterhin die Frage auf, ob es bei Krankheiten der Nase und ihrer Nebenhöhlen durch einen veränderten Stoffwechsel zu krankheits-spezifischen Veränderungen des Isoenzymmusters kommt.

Die Mittelwerte der in früheren Untersuchungen bestimmten Isoenzymaktivitäten im physiologischen Nasensekret sind in Tab. I zusammengefaßt (siehe S. 12).

Die Mittelwerte der gemessenen Aktivitäten, die in Abb. 3, 6, 9, 11, 12 und 15 graphisch dargestellt sind, sind in Tabelle IX noch einmal zusammengestellt.

Tabelle IX

Patientengruppen	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5
Sinusitis	1,4	15,8	34,3	48,1	0,4
Rhinitis	0,9	18,5	38,6	40,5	1,5
Zustand nach Laryngektomie	5,6	19,3	34,3	38,0	2,8
Polyposis nasi	2,7	14,2	36,4	47,7	-
Maligne Geschwülste	-	17,1	24,9	44,4	3,6
Ozaena	3,4	7,7	21,6	51,3	16,0

Im Nasensekret von Patientenkollektiven mit Sinusitis acuta, Polyposis nasi und malignen Tumoren der Nase und Nasennebenhöhlen konnte das gleiche Isoenzymmuster wie im normalen Nasensekret nachgewiesen werden. Die Hauptaktivität entfiel bei diesen Krankheiten auf die Isoenzyme LDH3 und LDH4. Die Isoenzyme mit der schnellsten Beweglichkeit, LDH1, und der trögsten Beweglichkeit, LDH5, waren in den meisten Fällen überhaupt nicht nachweisbar. Obwohl die Gesamtaktivität der LDH im Nasensekret von Patienten mit Virus-Rhinitis gegenüber der allergischen oder atrophischen Rhinitis signifikant erhöht war, konnte weder bei der Virus-Rhinitis noch bei der allergischen Rhinitis ein pathologisches Enzymmuster gefunden werden.

Eine leichte Abweichung des Isoenzymmusters gegenüber normalem Nasensekret konnte im Nasensekret von Patienten bei Zustand nach Laryngektomie nachgewiesen werden. Die Abweichung bestand darin, daß im Isoenzymmuster der LDH eine Verschiebung zu den Isoenzymen mit einem größeren Anteil an H-Typ-Monomeren stattfand. Wahrscheinlich kommt es, wenn die Nase ihrer physiologischen Aufgabe als Atmungs- und Riechorgan nicht mehr nachkommt, im Laufe der Jahre zu einem Umbau der Nasenschleimhaut, der sich dadurch auszeichnet, daß die Nasenschleimhaut mehr H-Typ-Monomere als M-Typ-Monomere synthetisiert.

Ein stark verändertes Isoenzymmuster im Nasensekret ließ sich eindeutig bei der Ozaena nachweisen. Die Isoenzyme LDH1 und auch LDH2 konnten, wenn überhaupt, nur in sehr geringer Aktivität gefunden werden. Die Hauptaktivität entfiel eindeutig auf die LDH4. Die LDH5 war im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Nasensekreten immer mit beachtlicher Aktivität nachweisbar.

Bei der Ozaena kommt es zur Atrophie und fibrösen Umwandlung der Schleimhaut und der Muscheln. Auch die Schleimdrüsen atrophieren. Es wird sehr zäher Schleim abgesondert, der eintrocknet und Krüstchen bildet. Die Sauerstoffversorgung der Nasenschleimhaut ist also nicht mehr in normalem Maße gewährleistet. Da LDH4 und LDH5 vor allem in Geweben mit schlechter Sauerstoffversorgung vorkommen, kann man sich diese Veränderungen pathogene-

tisch gut erklären. Es konnte jedoch nicht reklärt werden, ob bei dieser Krankheit die Nasenschleimhaut nicht mehr in der Lage ist, H-Typ-Monomere ausreichend zu synthetisieren oder ob die Verschiebung im Isoenzymmuster durch eine erhöhte Produktion der M-Typ-Monomere zustande kommt. Es ist jedoch eher anzunehmen, daß es bei der Rhinitis atrophicans zu einer Degeneration der Zellen in der Schleimhaut kommt, die für die Synthese der H-Typ-Monomere verantwortlich sind.

E. METHODIK

1. Gewinnung des Nasensekrets

In beide Nasenhöhlen des Patienten wurde je ein mit NaCl-Lösung getränkter Baumwolltampon eingeführt. Das nach 30 Minuten von dem Tampon aufgesogene Sekret wurde anschließend mit 0,5 ml eines 0,5 mol Boratpuffers (pH 8,0) extrahiert. Der Extrakt wurde gefiltert und für die Messungen verwendet.

2. Gewinnung des Serums

In gleicher Sitzung wurde dem Patienten in üblicher Weise Blut entnommen. Nach Abzentrifugieren wurde das Serum für die Messungen verwendet.

3. Bestimmung der Gesamt-LDH

Aktivität in mU/ml Nasensekret-Eluat bzw. Serum

a) Material:

Lösung 1: 50 mM Phosphatpuffer pH 7,5

0,6 mM Pyruvat

Lösung 2: 0,18 mM NADH

b) Methode:

3 ml Lösung 1, 0,05 ml Lösung 2 und 0,1 ml Sekreteluat bzw.

Serum wurden in eine Küvette pipettiert, mit einem Spatel gemischt und die Extinktion im Eppendorphotometer (Hg 366 nm, 25°C) nach genau 1, 2 und 3 Minuten abgelesen. Aus den Extinktionsdifferenzen pro Minute wird der Mittelwert gebildet und in die Berechnung eingesetzt:

$$\text{Volumenaktivität} = 9545 \times \Delta E/\text{min}$$

Da bei der Messung der Gesamt-LDH-Aktivität im Nasensekret-Eluat teilweise sehr hohe Aktivitäten auftraten, wurde bei $\Delta E/\text{min}$ über 0,05 das Meßeluat im Verhältnis 1 : 9 bzw. 1 : 99 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und das Ergebnis mit 10 bzw. 100 multipliziert.

- c) Berechnung der benötigten Serum- bzw. Sekretmenge:
 Im Anschluß wurde die jeweils aufzutragende Gesamtmenge an Sekret-Eluat bzw. Serum in μl (Mikroliter) berechnet, mit dem Ziel, pro Versuch eine genau definierte Menge an LDH-Gesamtaktivität zu verwenden. Als optimale Menge ergab sich:
 75 mU LDH-Gesamtaktivität
 Berechnungsformel:
 $75\ 000 : \text{gemessene LDH-Gesamtaktivität in mU/ml}$
 = zu verwendende Sekret- bzw. Serummenge in Mikroliter.

4. Elektrophoretische Trennung der Isoenzyme

Abhängig von der elektrischen Ladung und der Molekülgröße der aufzutrennenden Substanz wurde folgendes Gel-System und Puffer-System verwendet:

a) Gel-System

Das Trenngel wird aus folgenden Lösungen zusammengestellt:

Lösung A:

48 ml in HCl

36,3 g Tris (=Tris(Hydroxy-methyl)-aminomethan als Base)

0,223 ml Temed (=N,N,N,N-Tetra-methyläthylendiamin)

Mit aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt und pH 8,9 eingestellt.

Lösung B: (Haltbarkeit 1 Woche)

140 mg Per (Ammoniumperoxodisulfat = $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$)

Mit aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt.

Lösung C:

30 g Acrylamid

0,8 g Dis (N,N-Methylen-Disacrylamid)

Mit aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt.

b) Herstellung der Gele

Das Gel wird aus 1T. (Volumenanteil) der Lösung A, 4T. der Lösung B, 2T. der Lösung C und 3,9T. aqua dest. gebildet.

Gelstärke: 5,5 %

Es wird in 10 cm lange, mit Dichromatschwefelsäure und Methanol gereinigte und getrocknete Elektro-phoreseröhrchen bis zur Strichmarkierung 7,5 cm gefüllt. Da der Trenneffekt wesentlich davon abhängt, wie scharf die Farbgränze gegen Puffer ausgebildet ist, wird zur Erzielung eines geraden Meniskus die Gellösung mit aqua dest. etwa 0,5 cm hoch überschichtet. Die nun folgende Polymerisation des Gels dauert ca. 30 Minuten, wobei die Farbgränze Gel-Wasser oben scharf heraustritt. Nach der Polymerisation wird die Überschichtungsflüssigkeit abgekippt und die Geloberfläche mit Pufferlösung zweimal ausgespült.

c) Auftragen der Proben:

Zu der errechneten, jeweils 75 mU LDH-Gesamtaktivität enthaltenden Menge an Nasensekret-Eluat bzw. Serum wurde die gleiche Menge einer gesättigten Saccharose-Lösung zugegeben, gemischt und auf die Geloberfläche aufgetragen. Durch die Zugabe der gesättigten Saccharose-Lösung wird eine Vermischung der Probe mit der zu überschichtenden Pufferlösung verhindert. Von jedem Patienten wurden drei Gelröhrchen beschickt:

Ein Gelröhrchen mit 75 mU LDH enthaltendem Serum, ein Gelröhrchen mit 75 mU LDH enthaltendem Nasensekret-Eluat und ein Gelröhrchen mit einer Mischung von 37,5 mU LDH enthaltendem Serum 37,5 mU LDH enthaltendem Nasensekret-Eluat.

d) Puffersystem:

Der Elektrophorese-Puffer wird aus 6 g Tris und 28,8 g Glycin hergestellt, mit aqua dest. aufgefüllt und auf einen pH-Wert von 8,3 eingestellt. Vor Gebrauch wird der Puffer 1 : 9 mit aqua dest. verdünnt und bei 5°C gelagert, um eine möglichst geringe Wärme bei der Elektrophorese zu erreichen.

e) Elektrophorese-Gerät, Auftrennung:

Die mit den LDH-Proben beschickten Gelröhrchen werden nun mit kaltem Puffer überschichtet, Röhrchen und Puffer in ein handelsübliches Elektrophorese-Gerät eingebracht und die Spannung angelegt. Laufrichtung von der Anode zur Kathode! Um die Pufferfront während des Laufes beobachten zu können, wird in die Pufferlösung über der Probe ein Tropfen Bromphenol-Blau zugegeben. Damit die Substanzen in das Gel gut einwandern können, wird das Stromkonstantgerät etwa 10 Min. lang auf 3-4 mA. pro Röhrchen eingestellt. Nach der Sammlung der Substanzen, die als Schlieren-Zone des Bromphenol-Blau-Farbstoffes

im obersten Teils des Gels beobachtet werden kann, kann die Stromstärke auf 6 mA./Röhrchen erhöht werden. Nach einiger Zeit hebt sich ein gut sichtbarer, nach unten wandernder Puffergradient ab, mit dessen Hilfe man den Verlauf der Trennung gut beobachten kann.

5. Nachweis der LDH durch Anfärben der Gele

Nach Beendigung der Elektrophorese werden die Gele sofort mit Glycerin-Lösung aus den Röhrchen gespritzt und zur Anfärbung in mit Färbelösung gefüllte Reagenzgläser gegeben.

a) Zusammenstellung der Färbelösung:

Na-Lactat 1 mol pH 7,1	1,0 ml
als Substrat	
NAD 10 mg/ml	1,0 ml
als Coenzym	
NaCl 0,1 mol (0,584 g/100 ml)	1,0 ml
MgCl ₂ 5 mMol (0,101 g/100 ml)	1,0 ml
Phosphat-Puffer 0,5 mol (0,89 g/100 ml)	2,5 ml

Diese Lösung wird auf einen pH-Wert von 7,4 eingestellt. Weiterhin wird zugegeben:

Als zu reduzierender Farbstoff

Tetrazol-Blau (Salz) 1 mg/ml	2,5 ml
PMS (Phenazinmethosulfat 1 mg/ml)	0,25 ml
als Wasserstoffträger	

b) Inkubation:

Die Gele werden bei 37°C zwei Stunden im Wasserbad inkubiert und dann über Nacht bei 5°C in 7,5 % Essigsäure entfärbt.

6. Auswertung

Die gefärbten Gele können in 7,5 % Essigsäure bei 5°C bis zu einer Woche gelagert werden, ohne zu verblassen; dagegen ist bei Raumtemperatur bereits nach einem Tag ein Verblassen der Farbbanden festzustellen. Die eigentliche Auswertung der angefärbten Gele erfolgt im Mikrodensitometer. Es wurde die Lichtadsorption der Banden gemessen und mit einem Schreiber in entsprechenden Kurven aufgezeichnet. Der Nullwert wurde jeweils im ungefärbten Bereich des Gels justiert. Durch Integration der aufgezeichneten Kurven wurde die jeweilige prozentuale Verteilung der Isoenzyme in Bezug auf die Gesamt-LDH-Aktivität berechnet. Außerdem wurden gefärbte Gele photographisch festgehalten.

F. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse der Untersuchungen des LDH-Isoenzymmusters im Nasensekret von Patienten mit Erkrankungen im Bereich der Nase und ihrer Nebenhöhlen beschrieben.

1. Das Isoenzymmuster wurde mittels Diskelektrophorese bestimmt, die einzelnen Isoenzymbanden durch Anfärben der Gele dargestellt und durch Auswertung im Densitometer zahlenmäßig in rel. % der Gesamtaktivität erfaßt.
2. Durch den Vergleich des Isoenzymmusters im Nasensekret mit dem bekannten Isoenzymmuster im Serum gelang die eindeutige Identifizierung der einzelnen Isoenzymbanden im Nasensekret. Des weiteren konnte bestätigt werden, daß die LDH-Aktivität des Sekrets durch die aktive Leistung der Nasenschleimhaut zustande kommt, da das Isoenzymmuster im Nasensekret eindeutig von dem im Serum abweicht.
3. Das Isoenzymmuster im Nasensekret bei den Patienten, die an Sinusitis maxillaris acuta, Virus-Rhinitis, Polyposis nasi oder malignen Tumoren im Bereich der Nase und ihrer Nebenhöhlen erkrankt waren, unterschied sich nicht vom Isoenzymmuster im physiologischen Nasensekret.

4. Das Isoenzymmuster im Nasensekret bei Patienten, die laryngektomiert waren, zeigte eine geringgradige Verschiebung im Isoenzymmuster zugunsten der Isoenzyme, die zu einem größeren Anteil aus H-Typ-Monomeren bestehen.

5. Das Isoenzymmuster im Nasensekret bei Patienten mit Ozaena wich deutlich von Isoenzymmuster im physiologischen Nasensekret ab. Die Nasenschleimhaut synthetisiert bei Patienten mit dieser Erkrankung vorwiegend M-Typ-Monomere.

6. Aus den vorgelegten Untersuchungen ergeben sich neue, differentialdiagnostisch interessante Aspekte für die Diagnose von Erkrankungen im Bereich der Nase und ihrer Nebenhöhlen.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1. Buhrmester, C. C.: Nasal Mucus. Ann. Otol. (St. Louis) 45 (1963) 687.
2. Chain, E., E. S. Duthie: Identity of Hyaluronidase and Spreading Factor. Brit. J. exp. Path. 21 (1940) 324.
3. Daly, S.: Lysozyme of Nasal Mucus. Arch. Otolaryng. (Chicago) 27 (1938) 189.
4. Dietz, A., T. Lubrano: Separation and Quantitation of Lactat-Dehydrogenase-Isoenzymes by Discelectrophoresis. Analyt. Biochem. 20 (1967) 246.
5. Fröhlich, Chr.: Elektrophoretische Isoenzym-Auftrennung der Laktat-Dehydrogenase im Agargel. Z. klin. Chem. 4 (1965) 137.
6. Gottschalk, A.: The Glycoproteins. - Their Composition, Structure and Function. Elsevier, Amsterdam 1972.
7. Greiling, H., G. Engels, R. Kisters: Untersuchungen über die Isoenzyme der Laktat-Dehydrogenase in der Synovialflüssigkeit. Klin. Wschr. 9 (1964) 427.
8. Markert, C. L.: Lactate Dehydrogenase Isoenzymes: Dissociation and Recombination of Subunits. Science 140 (1963) 1329.
9. Markert, C. L., F. Möller: Multiple Forms of Enzyms: Tissue, Otogenetic and Species Specific Patterns. Proc. Natl. Acad. Sci. 45 (1969) 753.
10. Messerklinger, W.: Woher stammt die Befeuchtung der Schleimhautoberfläche der oberen Luftwege? Z. Laryng. Rhinol. 29 (1950) 247.
11. Naumann, H. H., W. H. Naumann: Kurze Pathophysiologie der Nase und ihrer Nebenhöhlen. In: Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde in Praxis und Klinik. Thieme-Verlag, Stuttgart 1977, Bd. 1
12. Panebianco, G., E. Manara: Über Lysozymgehalt der Nasensekretion und Nasenpolypen. Otorhinolaryng. Ital. 27 (1958) 79.

13. Pfleiderer, G., D. Jeckel, Th. Wieland: Zum Wirkungsmechanismus der Milchsäuredehydrogenase. *Biochem. Z.* 329 (1957) 104.
14. Pfleiderer, G., D. Jeckel: Individuelle Milchsäuredehydrogenase bei verschiedenen Säugetieren. *Biochem. Z.* 329 (1957) 370.
15. Reichert, R.: Zur Physiologie und Biochemie von Proteaseinhibitoren der Atemwege. Habilitationsschrift, Seite 12.
16. Sasaki, Y.: The Electrophoretical Analysis of the "Nasal Fibrinolytic Enzyme". *Acta Otolaryng.* (Stockh.) 65 (1968) 358.
17. Schorn, K., K. Hochstraßer: Enzyme des Intermediärstoffwechsels im menschlichen Nasensekret bei physiologischem und pathologischem Zustand der Schleimhaut. *Laryng. Rhinol.* 54 (1975) 597.
18. Schorn, K., K. Hochstraßer: Untersuchungen zur Transsudationsfähigkeit der menschlichen Nasenschleimhaut durch Bestimmung von Intermediärstoffwechselenzymen im Sekret bei verschiedenen inneren Erkrankungen. *Laryng. Rhinol.* 54 (1975) 659.
19. Schorn, K., K. Hochstraßer: Das Isoenzymmuster der Laktatdehydrogenase im Nasensekret. *Laryng. Rhinol.* 55 (1976) 961-967.
20. Vesell, E. S., A. G. Bearn: Localization of L.A.D. Activity in Serum Fraction. *Proc. Soc. exp. Biol.* (New York) 94 (1957) 96.
21. Vesell, E. S., A. G. Bearn: Observations on the Heterogeneity of Malic and Lactic Dehydrogenase in Human Serum and Red Blood Cells. *J. Clin. Invest.* 36 (1958) 672.
22. Wachsmuth, R. D., G. Pfleiderer: Biochemische Untersuchungen aus kristallinen Isoenzymen der Laktat-Dehydrogenase aus menschlichen Organen. *Biochem. Z.* 336 (1963) 545.
23. Wachsmuth, R. D., G. Pfleiderer, Th. Wieland: Aminosäurezusammensetzung von Isoenzymen der Laktat-Dehydrogenase aus menschlichen und tierischen Organen. *Biochem. Z.* 340 (1964) 80.
24. Weisskopf, A. H. F. Bearn: The Ground Substance of the Nasal Turbinates. A Prelim Report of Histochemical Studies. *Ann. Otol.* (St. Louis) 67 (1958) 292.

25. Wieland, Th., G. Pfeleiderer: Nachweis der Heterogenität von Milchsäure-Dehydrogenasen verschiedenen Ursprungs durch Trägerelektrophorese. Biochem. Z. 329 (1957) 112.
26. Wieland, Th., G. Pfeleiderer, F. Ortanderl: Über die Verschiedenheit der Milchsäuredehydrogenasen. Biochem. Z. 331 (1959) 103.
27. Wilkinson, J. H., W. A. Withycombe: Organ Specifity and Lactat-Dehydrogenase Activity. Biochem. J. 97 (1965) 663.
28. Wilkinson, J. H.: Isoenzymes. Chapman & Hall Ltd., 1970.
29. Wroblewski, F., J. S. La Due: SGOT Activity as an Index to Liver Cell Injury. Am. Intern. Med. 43 (1955) 345.

Lebenslauf

Name	Ingeborg Maria Heiß
Geboren	10.12.1950 in Peiting
Eltern	Georg Heiß Unternehmer gest. 1960 Cäcilie Heiß geb. K�nnemeyer Unternehmerin
Schul Ausbildung	1957-1961 Volksschule Peiting 1961-1970 Mathematisch-naturwissenschaftl. Gymnasium Schongau 1970 Abschluß mit dem Abitur
Berufsausbildung	1970-1971 Pädagogische Hochschule München 1971-1977 Studium der Humanmedizin an der LMU München Oktober 1977 Approbation zum Arzt
Berufliche Laufbahn	Seit 01.11.1977 Assistenzärztin am Zentralkrankenhaus Gauting

München, den

